

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 07-173148

(43)Date of publication of application : 11.07.1995

(51)Int.Cl. C07D311/40

C07D311/36

(21)Application number : 05-343304

(71)Applicant : KIKKOMAN CORP

(22)Date of filing : 17.12.1993

(72)Inventor : OBATA AKIO
MATSUURA MASARU

(54) PRODUCTION OF GENISTEIN

(57)Abstract:

PURPOSE: To separate and purify high-purity genistein by a simple operation.

CONSTITUTION: High-purity isoflavone is separated by bringing an isoflavone- containing mixture into contact with a solvent represented by the formula CHnCl_{4-n} (n is 0, 1 or 2) to extract genistein and subsequently concentrating the solvent layer. Since a complicated operation such as column chromatography or thin layer chromatography is not required, the time cost or the economical cost can be reduced.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 04.11.1998

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3078694

[Date of registration] 16.06.2000

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-173148

(43) 公開日 平成7年(1995)7月11日

(51) Int. Cl.⁵

識別記号

序内整理番号

F I

技術表示箇所

C 0 7 D 311/40

311/36

審査請求 未請求 請求項の数 1 F D (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願平5-343304

(22) 出願日 平成5年(1993)12月17日

(71) 出願人 000004477

キッコーマン株式会社

千葉県野田市野田339番地

(72) 発明者 小橋 明雄

千葉県野田市野田339番地 キッコーマン
株式会社内

(72) 発明者 松浦 勝

千葉県野田市野田339番地 キッコーマン
株式会社内

(54) 【発明の名称】 ゲニステインの製造法

(57) 【要約】

【目的】 高純度のゲニステインを簡単な操作で分離・精製する。

【構成】 イソフラボン混合物を一般式 C_nH_mC (n = 0, 1, 2) で表される溶剤と接触させてゲニステインを抽出した後、溶剤層を濃縮して高純度のイソフラボンを分離する。

【効果】 大豆イソフラボン混合物より、高純度のゲニステインを簡単な操作で分離・精製することができる。従ってカラムクロマトグラフィーや薄層クロマトグラフィー等の煩雑な操作が不要となり、時間的、経済的コストを低減することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 イソフラボン混合物を一般式 $C_6H_7C_1...$ ($n=0, 1, 2$)で表される溶剤で抽出処理することを特徴とするゲニステインの製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はイソフラボン混合物から、高純度のゲニステインを簡単な操作で分離して得る方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術及び課題】 マメ科、キク科、アヤメ科等多くの植物体にはダイゼイン、ゲニステイン、およびその配糖体であるダイジン、ゲニスチン等のイソフラボン（イソフラボンアグリコンおよびその配糖体）が含まれており、これらにはエストロゲン作用、抗菌作用、抗酸化作用、制ガン作用をはじめとして多くの薬理効果があることが確認されている。植物体中のイソフラボンは、その95%以上が配糖体として存在しているが、制ガン作用等の薬理効果は、配糖体よりもダイゼイン、ゲニステイン等のアグリコンの方が強い。

【0003】 従来、植物原料からゲニステインを含有するイソフラボン溶液を得る方法は公知であるが（特公平4-21670、特公平4-34526）、これらは数種類のイソフラボンの混合物を得る方法であってゲニステインを分離する方法ではない。

【0004】 またイソフラボン混合物よりゲニステインを単離する方法も公知であるが（特開昭61-247396）、これはカラムクロマトグラフィーや薄層クロマトグラフィーを繰り返す大変煩雑な方法であり、時間的、経済的コストが高いという問題がある。そのため、イソフラボン混合物より、高純度のゲニステインを簡単な操作で分離する方法の確立が一層期待されている。

【0005】

【課題を解決するための手段】 このような現状を鑑み、本発明者らはイソフラボン混合物から簡単な操作でゲニステインを分離する方法について検討した結果、イソフラボンのうちゲニステインのみが一般式 $C_6H_7C_1...$ ($n=0, 1, 2$)で表される溶剤に易溶であることを見出し本発明を完成した。すなわち本発明はイソフラボン混合物を一般式 $C_6H_7C_1...$ ($n=0, 1, 2$)で表される溶剤で抽出処理することを特徴とするゲニステインの製造法である。

【0006】 以下に本発明を詳細に説明する。イソフラボン混合物を得るための出発原料は、イソフラボンを含む植物の抽出物であればどのようなものでもよいが、特にイソフラボンを大量に含む大豆を用いることが好ましい。大豆抽出物としては丸大豆、脱皮大豆、脱脂大豆、大豆粉、大豆胚芽等を水、有機溶媒または水と有機溶媒との混合溶媒で抽出したもの、あるいは豆腐、味噌、醤油、分離大豆蛋白質等を製造する工程で生じる

「煮汁」、「ゆ」、「ホエー」等を挙げることができる。また、醤油粕をメタノール、エタノール等のアルコール、あるいは含水アルコールで抽出したものを使用することも可能である。さらには醤油油にカセイソーダ溶液を加え、加熱して不要な油をケン化し、エチルエーテルで不ケン化物であるイソフラボンアグリコンを抽出したものをを用いることもできる。

【0007】 以下に、大豆の水浸漬液を出発原料としてイソフラボン混合物を得る方法について、具体例を挙げて説明する。

1 脱皮大豆を10倍量の50℃の温水（アルカリでpH9に調整）に2時間浸漬し、浸漬液を分離する。

2 この浸漬液を合成樹脂（例えばダイアイオンHP-20、YMC-GEL ODS-Aタイプ60-01）に接触させ、浸漬液中のイソフラボンを合成樹脂に吸着させる。浸漬液と合成樹脂との接触には、バッチ法またはカラム法のいずれの方法を使用しても良い。

3 合成樹脂に吸着したイソフラボンをアルカリ性水溶液、アルコール、あるいは含水アルコールを用いて脱着・溶出し、樹脂吸着物として回収する。

4 得られた樹脂吸着物を減圧濃縮し、シロップ状の濃縮物を得る。この濃縮物にはイソフラボン配糖体の他にクロロフィル、カロチノイド、リン脂質等複数の脂溶性成分が混在しているので、この濃縮物に有機溶剤（例えばヘキサン等）を加え、脂溶性成分を抽出除去した後、抽出残渣を回収する。抽出残渣の主成分はイソフラボン配糖体、具体的にはダイジンおよびゲニスチンであり、ゲニスチンは本発明の目的とするゲニステインの配糖体である。

【0008】 本発明は、この抽出残渣を用いて行なうことも可能であるが、ゲニステインの収率を上げるため、加水分解処理により抽出残渣中の配糖体成分をイソフラボンアグリコンとしたものをを用いることが好ましい。

5 上記の方法により得られた抽出残渣に塩酸酸性アルコールを加え、還流させながら100℃、6時間加水分解を行う。本処理によりイソフラボン配糖体の主成分であるダイジンおよびゲニスチンは、ゲニステインおよびダイゼインに加水分解される。

【0009】 尚、加水分解処理は酵素（ β -グルコシダーゼ）を用いて行なうことも可能である。

6 加水分解物を減圧濃縮した後、蒸留水で十分に洗浄し、中性領域（pH5-7）に調整する。洗浄後、残渣を回収し乾燥させる。この残渣（イソフラボン混合物）の主成分はイソフラボンアグリコン、具体的にはダイゼインおよびゲニステインである。

【0010】 本発明では、上記のように調製したイソフラボン混合物を一般式 $C_6H_7C_1...$ ($n=0, 1, 2$)で表される溶剤、具体的にはクロロホルム、ジクロロメタン、四塩化炭素で抽出処理してゲニステインを分離する。上記の方法により得られたイソフラボン混合物の主

成分はイソフラボンアグリコン、具体的にはゲニステインおよびダイゼインであり、このうちゲニステインのみが上記の溶剤に易溶である。そのため、イソフラボン混合物をこれらの溶剤に接触させると、ゲニステインのみが溶剤層に抽出される。本発明で使用する溶剤のうち、特にクロロホルムは、ゲニステインを特異的に抽出する効果が優れている。

【0011】イソフラボン混合物と上記の溶剤との接触には、還流抽出法を用いることが好ましい。また溶剤の量はイソフラボン混合物の30～500倍量、抽出時間は3時間前後とし、これを数回繰り返すことが好ましい。イソフラボン混合物を溶剤で抽出処理した後、溶剤層を、例えば減圧濃縮することにより目的とするゲニステインを分離することができる。本発明の方法により得られるゲニステインは、必要に応じてアルミナ、シリカゲル等を用いてさらに精製しても良い。

【0012】以下実験例により、本発明の効果を説明する。

実験例1

(イソフラボン混合物の調製法) 脱皮大豆を、10倍量の50℃の温水(アルカリでpH9に調整)に2時間浸漬し、浸漬液を分離する。次いでバッチ法により浸漬液*

(表1)

抽出に用いた溶剤	溶剤中のゲニステイン/ダイゼイン比
クロロホルム	65.04
ジクロロメタン	25.18
四塩化炭素	9.80
メタノール	1.02
ブタノール	1.05

【0015】この実験例から明らかなように、イソフラボン混合物を一般式 $C_nH_mCl_n$ ($n=0, 1, 2$)で表される溶剤、すなわちクロロホルム、ジクロロメタン、四塩化炭素で抽出処理することにより、高純度のゲニステインを簡単な操作で分離することができる。特にクロロホルムはゲニステインを特異的に抽出する効果が優れていることがわかる。

【0016】

【発明の効果】 本発明により大豆イソフラボン混合物より、高純度のゲニステインを簡単な操作で分離・精製することができる。従ってカラムクロマトグラフィーや薄層クロマトグラフィー等の煩雑な操作が不要となり、時間的、経済的コストを低減することができる。

【0017】

*に合成樹脂(ダイセイオンHP-20)を加え、1時間攪拌する。合成樹脂を水で十分に洗浄した後、1N-アンモニア水を加え、樹脂吸着物を溶出させる。同様の溶出操作を2回行なった後、溶出液を合わせて減圧濃縮し、シロップ状の濃縮物を得る。この濃縮物にクロロホルムを加えて3時間の還流抽出を3回行なった後、抽出残渣を回収し、この抽出残渣に4%塩酸メタノール溶液を加え、還流しながら100℃、6時間加水分解する。加水分解物を減圧濃縮した後、蒸留水で十分に洗浄し、洗浄後の残渣を乾燥させて褐色の固形物を得た。この固形物を、HPLC(Waters社 2090型)で分析したところ、この固形物はダイゼインとゲニステインを主成分とするイソフラボン混合物であった。また、ダイゼインとゲニステインの量は約1:1であった。

【0013】(ゲニステインの抽出) 上記の方法により調製したイソフラボン混合物に、表1に示した溶剤を加え、3時間の還流抽出を3回行なった後、溶剤層をメンブランフィルターで濾過し、濾液を上記と同様の条件でHPLC分析したところ、その成分はゲニステインおよびダイゼインであった。結果を表1に示す。

【0014】

【実施例】 以下に実施例を示す。

実施例1

脱皮大豆2kgを、アルカリでpH9に調整した50℃の水20lに2時間浸漬し、浸漬液を分離した。次いでバッチ法により、浸漬液に合成樹脂(ダイセイオンHP-20)500gを加え、1時間攪拌した。合成樹脂を水で十分に洗浄した後、1N-アンモニア水700mlを加えて樹脂吸着物を溶出させた。同様の溶出操作を2回行なった後、溶出液を合わせて減圧濃縮し、シロップ状の濃縮物1.57gを得た。この濃縮物にヘキサン100mlを加えて3時間の還流抽出を3回行なった。次いで抽出残渣を回収し、この抽出残渣に4%塩酸メタノール溶液150mlを加え、還流しながら3時間加水分解した。加水分解物を減圧濃縮した後、この加水分解物を蒸

留水で十分に洗浄し、洗浄後の残渣を乾燥させて褐色の固形物367mgを得た。この固形物に、クロロホルム50mlを加えて3時間の還流抽出を3回行なった後、溶剤層を減圧濃縮して高純度のゲニステイン152mgを得た。

【0018】実施例2

脱脂大豆を原料として製造された醤油の副産物である醤油粕50gに、1500mlのメタノールを加えて3時間の還流抽出を3回繰り返した後、抽出液を合わせ、これを減圧濃縮しシロップ状の濃縮物4.0gを得た。こ

10

出を3回行なった。次いで、抽出残渣を回収し、蒸留水で十分に洗浄した後、残渣を乾燥させて褐色の固形物1450mgを得た。この固形物の主成分はイソフラボンアグリコン、具体的にはダイゼインおよびゲニステインであった。

【0019】尚、醤油粕中のイソフラボン配糖体は、醤油製造工程中に β -グルコシダーゼによる加水分解を受けてアグリコンとなっているため、加水分解操作を行なう必要はない。上記残渣にクロロホルム500mlを加え、実施例1と同様にして還流抽出を行ない、溶剤層を減圧濃縮して高純度のゲニステイン769mgを得た。